

## Aktivitas Antibakteri Susu Probiotik *Lactobacilli* Terhadap Bakteri Penyebab Diare (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio cholerae*)

Nopriadi Nelintong<sup>1)</sup>, Isnaeni<sup>\*2)</sup>, Noor Erma Nasution<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

<sup>2)</sup>Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

Jl. Dharmawangsa Dalam, Surabaya 60286 Indonesia, \*E-mail: isnaeni\_yudi13@yahoo.com

### Abstract

*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, and *Lactobacillus acidophilus* fermented milk were made in single and mixed preparation. Their antibacterial activities were investigated against diarrhea's bacterial *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio cholera* as bacterial test and ciprofloxacin as reference standard by using agar diffusion method. The highest zone of inhibitions produced by *L. plantarum* and *L. casei* fermented milk at 9:1 ratio,  $12,33 \pm 0,07$  mm,  $12,43 \pm 0,29$  mm, and  $12,32 \pm 0,81$  mm against *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Vibrio cholera* respectively. The highest activity of the combination of *L. plantarum* and *L. casei* (9:1) and *L. acidophilus* was produced at 9:1 ratio,  $13,08 \pm 0,08$  mm,  $13,46 \pm 0,04$  mm, and  $13,21 \pm 0,02$  mm against *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Vibrio cholera* respectively. Minimum inhibitory concentration of the combination fermented milk with *L. plantarum* and *L. casei* (9:1) and *L. acidophilus* in ratio 9:1 was 40% against *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Vibrio cholerae*.

**Keywords:** *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, fermented milk, diarrhea's bacterial.

### PENDAHULUAN

Probiotik didefinisikan sebagai mikroba hidup yang memiliki efek menguntungkan bagi kesehatan dan kehidupan inangnya (Tamime *et al.*, 2005). Beberapa probiotik yang merupakan flora normal telah berhasil diisolasi, antara lain bakteri asam laktat (BAL). Sediaan obat atau makanan yang mengandung probiotik telah beredar di pasaran dan dimanfaatkan oleh masyarakat untuk berbagai tujuan, misalnya anti diare (Allen *et al.*, 2011) dan untuk meningkatkan sistem imunitas tubuh. Penelitian tentang peran probiotik sebagai anti diare akut juga telah dilaporkan (Canani *et al.*, 2007). Jenis probiotik yang paling banyak digunakan adalah golongan *Lactobacillus* sp. dan *Bifidobacterium* sp. Probiotik yang digunakan baik sebagai obat maupun *food supplement* dapat berada dalam bentuk biomassa bakteri yang dijebak dalam matrik tertentu atau dalam bentuk sediaan susu fermentasi yang dikenal sebagai yogurt.

Penelitian ini akan melaporkan hasil kajian aktivitas antibakteri sediaan susu probiotik *L. plantarum*, *L. casei*, dan *L. acidophilus* terhadap bakteri penyebab diare *E. coli*, *S. typhimurium*, dan *V. cholera*. Menurut Lourens-Hattingh dan Valjoen (2001), *Lactobacillus* sp. menghasilkan beberapa metabolit antara lain asam laktat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang mampu menghambat pertumbuhan dan/atau membunuh bakteri patogen. Mekanisme lain yang menyebabkan probiotik mampu melawan mikroba patogen adalah antagonis kompetitif melalui kompetisi adesi pada sel epitel, penggunaan nutrisi dan meningkatkan sistem imun tubuh inang.

Di negara maju walaupun sudah terjadi perbaikan kesehatan dan ekonomi masyarakat, tetapi insiden diare

infeksi tetap tinggi dan masih menjadi masalah kesehatan (Zein *et al.*, 2004). Demikian juga di Indonesia, penyakit disre masih menduduki peringkat yang memerlukan perhatian. Kajian aktivitas anti bakteri penyebab diare pada penelitian ini difokuskan pada optimasi perbandingan susu probiotik *L. plantarum*, *L. casei*, dan *L. acidophilus* yang diharapkan menghasilkan efek potensiasi dengan jumlah sel mikroba yang memenuhi persyaratan sesuai kebutuhan sel target sebagai anti diare. Secara kualitatif potensi bakteri dibandingkan standar siprofloksasin dalam sediaan injeksi.

### BAHAN DAN METODE

**Alat Penelitian.** Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, inkubator (Memmert), jangka sorong, pipet mikro (Socorex), vortex (Type 161700 mixer), otoklaf (HL-340 series vertical type steam sterilizer), spektrofotometer UV-Vis (Thermo Fisher Scientific 5225 Verona Road), viskosimeter VT-04, viskosimeter VT-03, colony counter, dan pH meter SCHOTT glass mainz tipe CG 842.

**Bahan Penelitian.** Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur bakteri probiotik *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, dan *Lactobacillus plantarum* yang diperoleh dari Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Isolat Bakteri uji *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, dan *Salmonella typhimurium* diperoleh dari *Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga Surabaya. Media MRS (*deMan Rogosa Sharpe*) agar Oxoid (CM0361), media MRS broth Oxoid (CM0359), media *Nutrient* agar Oxoid (CM0003), NaCl p.a, Air suling, Susu skim rasa

plain, dan ciprofloxacin infus iv 0,2% (Dexamedica), tiap mL infus mengandung ciprofloxacin laktat H<sub>2</sub>O 2,66 mg setara dengan ciprofloxacin base 2,0 mg.

#### Metode uji

**1. Peremajaan Kultur Bakteri.** Bakteri probiotik dari kultur persediaan induk didiremajakan dengan cara diambil sebanyak satu Öse, dinokulasi dalam media segar agar miring MRS, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Bakteri uji dari kultur persediaan induk diremajakan dengan cara yang sama, dinokulasi dalam media segar agar miring *Nutrient*, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

**2. Penyiapan Starter Probiotik.** Bakteri probiotik yang telah diinkubasi selama 24 jam diambil 1 Öse, diinokulasikan dalam 10 mL larutan *MRS broth* steril, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, kerapatan optik bakteri diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm, bila perlu dilakukan pengaturan konsentrasi inokulum hingga diperoleh transmittan 25%, digunakan blanko *MRS broth*.

**3. Pembuatan Yogurt.** Preparasi bahan baku susu fermentasi menggunakan bubuk susu skim 15,0 g dilarutkan dalam 100 mL air suling, kemudian dipanaskan pada suhu 80-85°C selama 15 menit. Selanjutnya didinginkan sampai suhu 42-45 °C, ditambah 10% starter probiotik, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 8 jam. Setelah yogurt terbentuk, standar mutu yogurt dikarakterisasi dengan parameter dan persyaratan sesuai SNI 2009, meliputi: organoleptis, pH, viskositas, densitas, dan Angka Lempeng Total (ALT).

Untuk penentuan ALT: ditimbang 1 mL yogurt dicampur dengan 9 mL larutan *Phosphat Buffer Saline* (PBS) steril pH 7,4 dalam tabung reaksi, divortex sampai homogen, diberi label 10<sup>-1</sup>, diambil 1 mL larutan dari tabung 10<sup>-1</sup>, dimasukkan ke dalam tabung reaksi baru yang berisi 9 mL larutan PBS, divortex dan diberi label 10<sup>-2</sup> dan seterusnya sampai tabung ke-10<sup>-10</sup>. Disiapkan 1 tabung reaksi yang berisi 10 mL PBS sebagai blanko. Diambil 1 mL dari setiap tabung pengenceran di atas, kemudian dimasukkan dalam media *MRS agar* suhu 45-55°C, divortex dan dituang ke dalam cawan petri steril yang telah diberi label berdasarkan nomor pengenceran, dihomogenkan, didiamkan hingga memadat, diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Jumlah bakteri pada lempeng agar dihitung menggunakan *colony counter*. Petri yang mengandung koloni 30-300 bakteri dijadikan landasan untuk perhitungan ALT.

**4. Penyiapan Inokulum Bakteri Uji.** Ke dalam biakan segar bakteri uji yang berumur 24 jam dimasukkan 10 mL larutan NaCl 0,9% steril, kemudian divortex sampai seluruh koloni terlepas dari agar, selanjutnya diukur kerapatan optiknya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm, dilakukan pengaturan konsentrasi inokulum hingga

diperoleh transmittan 25%. Sebagai blanko digunakan larutan NaCl 0,9% (Depkes RI, 1995).

**5. Penyiapan Media Uji.** Disiapkan 2 buah tabung reaksi berisi media *Nutrient agar* masing-masing sebanyak 15,0 mL (sebagai *seed layer*) dan 35,0 mL (sebagai *based layer*). Media *based layer* diletakkan pada cawan petri steril, diratakan dan didiamkan hingga memadat. Selanjutnya diambil 5 µL inokulum bakteri uji yang mempunyai transmittan 25%, dimasukkan ke dalam 15,0 mL media *seed layer*, divortex hingga homogen, dituang pada permukaan media *based layer* yang telah memadat, diratakan, didiamkan hingga memadat. Dibuat lubang dengan alat pelubang agar sebagai pencadang larutan standar dan larutan uji.

**6. Uji Potensi Probiotik Kultur Tunggal.** Dipipet sebanyak 100 µL susu probiotik, dimasukkan ke dalam lubang (diameter 0,6 cm dan tinggi 1 cm) pada masing-masing media uji. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diamati dan diukur diameter zona hambat yang dihasilkan dalam millimeter, dibandingkan dengan respon yang dihasilkan standar siprofloksasin.

**7. Uji Potensi Kombinasi Probiotik.** Susu probiotik *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* dikombinasikan dengan perbandingan 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9 (v/v), masing-masing campuran divortex, diambil dari masing-masing kombinasi sejumlah tertentu sesuai perbandingan sampai volume akhir campuran 1,0 mL. Dari masing-masing kombinasi diambil sebanyak 100 µL dimasukkan ke dalam sumur (diameter 0,6 cm dan tinggi 1 cm) pada media uji, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian diamati dan diukur diameter zona hambat yang dihasilkan dalam milimeter.

Hasil kombinasi susu probiotik *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* yang memberikan aktivitas antibakteri terbesar dikombinasikan dengan *L. acidophilus* pada perbandingan 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9 (v/v), masing-masing campuran divortex, diambil dari masing-masing kombinasi sejumlah tertentu sesuai perbandingan sampai volume akhir campuran 1,0 mL. Dari masing-masing kombinasi diambil sebanyak 100 µL dimasukkan ke dalam sumur (diameter 0,6 cm dan tinggi 1 cm) pada media uji, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian diamati dan diukur diameter zona hambat yang dihasilkan dalam millimeter, dibandingkan dengan respon yang dihasilkan standar siprofloksasin dan susu skim 15% digunakan sebagai kontrol negatif.

**8. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kombinasi Yogurt.** Dari hasil penapisan (tahap 7) diperoleh perbandingan kombinasi yogurt yang menunjukkan potensi terbesar terhadap masing-masing bakteri uji, dilakukan penetapan KHM dengan mengukur daya hambat larutan uji pada rentang konsentrasi 30-100% menggunakan *serial dilution*, masing-masing ditanam pada media uji. Diameter zona yang dihasilkan

diamati, respon yang dihasilkan larutan uji pada semua konsentrasi dibandingkan untuk menetapkan KHM.

**Variabel Penelitian.** Variabel bebas pada penelitian ini adalah perbandingan konsentrasi yogurt, (*Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei*) dan *Lactobacillus acidophilus*. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah diameter zona hambat yang dihasilkan pada uji daya hambat. Variabel terkontrol penelitian ini adalah volume larutan uji (susu probiotik) yang dimasukkan dalam pencadangan, jumlah inokulum bakteri uji, jenis media yang digunakan, waktu dan suhu inkubasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil karakterisasi susu probiotik *L. plantarum*, *L. casei*, dan *L. acidophilus* tersaji pada Tabel 1. Dibandingkan standar (SNI, 2009) susu probiotik yang dihasilkan memenuhi persyaratan. Sesuai dengan tujuan penelitian, kombinasi susu probiotik memberikan nilai ALT sesuai dengan persyaratan jumlah koloni bakteri probiotik dalam target sel di intestin, yaitu minimal  $10^7$  cfu/mL. Perubahan spesifikasi susu skim menjadi susu probiotik, terutama terkait pH dan viskositas mengindikasikan terjadinya proses fermentasi oleh probiotik. Nilai pH yang rendah (asam), dapat disebabkan oleh kemampuan probiotik menghasilkan asam laktat dan asam-asam organik lain. Pada pH rendah, kelarutan protein susu menurun akibatnya terjadi koagulasi sehingga terbentuk gumpalan yang makin lama makin banyak. Terbentuknya gumpalan inilah yang akan menyebabkan perubahan tekstur dan menyebabkan perubahan viskositas.

Hasil uji aktivitas daya hambat larutan uji terhadap pertumbuhan bakteri uji yang dinyatakan sebagai diameter zona hambat (mm) tersaji pada Tabel 2, Tabel 3, dan Gambar 1. Dari kedua data tersebut dapat diinformasikan bahwa susu probiotik *L. plantarum* menunjukkan daya hambat yang lebih besar dibandingkan susu probiotik *L. casei* dan *L. acidophilus*. Daya hambat susu probiotik *L. casei* lebih besar dibandingkan susu probiotik *L. acidophilus*. Kombinasi susu probiotik *L. plantarum* dan *L. casei* menunjukkan aktivitas terhadap ke-tiga bakteri uji terbesar pada perbandingan 9 : 1. Pada rasio ini susu probiotik dikombinasi dengan susu *L. acidophilus* dan hasil uji menunjukkan bahwa aktivitas terbesar diberikan oleh

kombinasi susu probiotik terhadap ke-tiga bakteri uji pada perbandingan 9:1



**Gambar 1.** Hasil penapisan daya hambat kombinasi susu probiotik terhadap *E. coli* setelah Inkubasi 24 jam dengan pembanding siprofloksasin (tanda panah)

Kombinasi susu probiotik *L. plantarum* dan *L. casei* (9:1) dan susu probiotik *L. acidophilus* dengan rasio 9:1 dapat diusulkan dan prospektif untuk dikembangkan sebagai sediaan susu probiotik untuk anti diare. Gambar 2 menunjukkan bahwa potensi susu probiotik jauh lebih rendah dibandingkan siprofloksasin, namun susu probiotik dapat dikembangkan menjadi bentuk sediaan konsentrat, sehingga aktivitasnya dapat ditingkatkan. Fenomena yang diusulkan ini didukung data ALT kombinasi susu probiotik  $10^8$  cfu/mL yang memenuhi persyaratan sediaan dengan target kerja di intestin. Syarat probiotik untuk mampu menimbulkan efek menyehatkan bagi intestinal dan menghambat bakteri patogen adalah minimal  $10^6$  cfu/mL (Kailasapath dan Chin, 2000). Selain itu, berbagai faktor yang dapat mempengaruhi karakter susu probiotik juga masih perlu dioptimasi, misalnya jumlah inokulum awal atau *starter* seperti hasil penelitian yang dilaporkan oleh Afriani (2010). Diameter zona hambat terbesar yang dihasilkan dari kombinasi susu probiotik *L. plantarum* dan *L. casei* (9:1) dan susu probiotik *L. acidophilus* dengan rasio 9:1 terhadap bakteri uji penyebab diare, yaitu *E.coli*, *S. typhimurium* dan *V. cholerae* berturut-turut adalah  $13,08 \pm 0,08$  mm,  $13,46 \pm 0,04$  mm, dan  $13,21 \pm 0,02$  mm.

**Tabel 1.** Hasil Karakterisasi Susu Skim dan susu probiotik

	Parameter uji	Hasil pengamatan	Spesifikasi menurut SNI (2009)
<b>Susu Skim</b>	Bau	Susu	Normal
	Warna	Putih	Tidak tercantum
	Bentuk	Cair	Tidak tercantum
	Rasa	Plain (susu tawar)	Normal
	pH	$6,50 \pm 0,00^*$	Tidak tercantum
	Viskositas (dPas)	$0,26 \pm 0,03^*$	Tidak tercantum
	Berat Jenis (g/mL)	$1,04 \pm 0,00^*$	Tidak tercantum
	Parameter uji	Hasil pengamatan	Spesifikasi menurut SNI (2009)
<b>Susu Probiotik <i>L. acidophilus</i></b>	Bau	Asam	Normal/ khas
	Warna	Putih	Tidak tercantum
	Bentuk	Cairan kental	Cairan kental-padat
	Rasa	Asam	Normal / khas
	pH	$4,32 \pm 0,01^*$	Tidak tercantum
	Viskositas (dPas)	$0,9 \pm 0,1^*$	Tidak tercantum
	Berat Jenis (g/mL)	$1,04 \pm 0,00^*$	Tidak tercantum
	Parameter uji	Hasil pengamatan	Spesifikasi menurut SNI (2009)
<b>Susu Probiotik <i>L. casei</i></b>	Bau	Asam	Normal/ khas
	Warna	Putih	Tidak tercantum
	Bentuk	Cairan kental	Cairan kental-padat
	Rasa	Asam	Normal / khas
	pH	$4,43 \pm 0,01^*$	Tidak tercantum
	Viskositas (dPas)	$0,9 \pm 0,1^*$	Tidak tercantum
	Berat Jenis (g/mL)	$1,04 \pm 0,00^*$	Tidak tercantum
	Parameter uji	Hasil pengamatan	Spesifikasi menurut SNI (2009)
<b>Susu Probiotik <i>L. plantarum</i></b>	Bau	Asam	Normal/ khas
	Warna	Putih	Tidak tercantum
	Bentuk	Cairan kental	Cairan kental-padat
	Rasa	Asam	Normal / khas
	pH	$4,60 \pm 0,01^*$	Tidak tercantum
	Viskositas (dPas)	$0,9 \pm 0,0^*$	Tidak tercantum
	Berat Jenis (g/mL)	$1,05 \pm 0,00^*$	Tidak tercantum

**Tabel 2.** Hasil pengamatan diameter zona hambat kombinasi susu probiotik *L. plantarum* dan susu probiotik *L. casei* terhadap Bakteri Penyebab Diare

Kelompok	Diameter Zona Hambat (mm) terhadap Bakteri Uji		
Kombinasi Susu Probiotik <i>L. plantarum</i> dan <i>L. casei</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
1 : 9	11,18±0,01	11,17±0,03	11,38±0,44
2 : 8	11,94±0,59	11,33±0,28	11,53±0,39
3 : 7	11,29±0,11	11,18±0,05	11,47±0,28
4 : 6	11,67±0,17	11,38±0,33	11,58±0,46
5 : 5	11,73±0,26	11,41±0,31	11,81±0,36
6 : 4	11,91±0,27	11,63±0,33	11,76±0,55
7 : 3	11,99±0,24	11,80±0,11	11,84±0,43
8 : 2	12,12±0,01	12,20±0,19	12,28±0,75
9 : 1	12,33±0,07	12,43±0,29	12,32±0,81

**Tabel 3.** Hasil pengamatan diameter zona hambat kombinasi susu probiotik *L. plantarum* dan *L. casei* (9:1) dan susu probiotik *L. acidophilus* terhadap Bakteri Penyebab Diare

Kelompok	Diameter Zona Hambat (mm) terhadap Bakteri Uji		
Kombinasi Susu Probiotik <i>L. plantarum</i> dan Susu Probiotik <i>L. casei</i> (9:1) dan Susu Probiotik <i>L. acidophilus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
1 : 9	10,72±0,08	10,93±0,12	11,30±0,03
2 : 8	11,61±0,05	11,78±0,02	11,70±0,02
3 : 7	11,89±0,05	11,89±0,04	11,90±0,02
4 : 6	11,85±0,05	12,13±0,07	12,03±0,06
5 : 5	12,11±0,12	12,76±0,06	12,51±0,07
6 : 4	12,77±0,04	12,82±0,02	12,62±0,02
7 : 3	12,93±0,04	13,32±0,02	13,11±0,03
8 : 2	13,01±0,05	13,35±0,05	13,15±0,02
9 : 1	13,08±0,08	13,46±0,04	13,21±0,02
L. p	11,65±0,05	11,84±0,04	11,88±0,02
L. c	11,29±0,04	11,37±0,03	11,58±0,02
L. a	10,49±0,04	10,82±0,02	10,87±0,03
+	19,25±0,05	18,12±0,03	20,68±0,02
-	7,00±0,00	7,00±0,00	7,00±0,00

**Keterangan.**

Kontrol + : antibiotik Siprofloksasin 10 ppm

Kontrol - : susu skim

**Tabel 4.** Hasil penetapan KHM Kombinasi Yogurt terhadap Bakteri Uji

Kadar (% v/v)	Diameter Zona Hambat (mm) terhadap Bakteri		
	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>V. cholerae</i>
Siprofloksasin (2 ppm)	17,32±0,08	17,47±0,08	18,07±0,15
Susu Skim	7,00 ± 0,00	7,00 ± 0,00	7,00 ± 0,00
30	7,00 ± 0,00	7,00 ± 0,00	7,00 ± 0,00
35	7,00 ± 0,00	7,00 ± 0,00	7,00 ± 0,00
40	9,35±0,05	9,38±0,02	9,45±0,10
45	10,33±0,10	10,66±0,07	10,80±0,05
50	10,93±0,15	10,98±0,10	11,28±0,10
55	11,43±0,15	11,58±0,07	11,60±0,10
60	11,71±0,14	11,81±0,12	12,05±0,13
80	12,13±0,16	12,36±0,37	12,68±0,07
100	13,31±0,10	13,55±0,15	13,58±0,12



**PUSTAKA**

- Afriani, 2010. Pengaruh Penggunaan Starter Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* terhadap Total Bakteri Asam Laktat, Kadar Asam dan Nilai pH Dadih Susu Sapi. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*. Vol. 13, No. 6, p. 279-285.
- Allen SJ, Martinez EG, Gregorio GV, Dans LF, 2011. Probiotics for treating acute infectious diarrhea. *Sao Paulo Medical Journal*. p. 185.
- Anonim, 1995. Farmakope Indonesia, Edisi 4. Departement Kesehatan. Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan. Jakarta. hal. 891-899.
- Canani BR, Cirillo P, Terrin G, Cesarano L, Spagnuolo MI, De Vincenzo A, Albano F, Passariello A, De Marco G, Manguso F, Guarino A, 2007. Probiotics for treatment of acute diarrhea in children: randomized clinical trial of five different preparations. *British Medical Journal*. Vol. 335, No. 7615, p. 340.
- Lourens-Hattingh A, Viljoen BC, 2001. Susu probiotik as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*. Vol. 11, p. 1-17.
- SNI 2981:2009, 2009. *Yoghurt*. Jakarta : Badan Standarisasi Nasional.
- SNI 2970:2006, 2006. *Susu Bubuk*. Jakarta : Badan Standarisasi Nasional.
- Tamime AY, Saarela M, Sondergaard AK, Mistry VV, Shah NP. 2005. Production and maintenance of viability of probiotic micro-organisms in dairy products. *Di dalam* Tamime AY (ed). *Probiotic Dairy Products*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd., p. 39-72.
- Zein U, Khalid HS, Josia G, 2004. *Diare Akut Disebabkan Bakteri*. Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Medan